

DOI: 10.11913/PSJ.2095-0837.2017.60925

郝园园, 舒黄英, 蔡庆泽, 王振, 胡家琦, 朱国鹏, 成善汉, 周媛, 汪志伟. 植物细胞质雄性不育及育性恢复研究进展 [J]. 植物科学学报, 2017, 35(6): 925~931

Hao YY, Shu HY, Cai QZ, Wang Z, Hu JQ, Zhu GP, Cheng SH, Zhou Y, Wang ZW. Recent advances in plant cytoplasmic male sterility and fertility restoration [J]. *Plant Science Journal*, 2017, 35(6): 925~931

植物细胞质雄性不育及育性恢复研究进展

郝园园¹, 舒黄英¹, 蔡庆泽¹, 王振¹, 胡家琦¹, 朱国鹏¹,
成善汉¹, 周媛², 汪志伟^{1*}

(1. 海南大学热带农林学院, 海南省热带生物资源可持续利用重点实验室, 海口 570228;

2. 中国科学院武汉植物园, 武汉 430074)

摘要: 植物细胞质雄性不育是一种广泛存在于高等植物中的母性遗传性状。细胞质雄性不育不仅为研究核质互作提供了良好材料, 同时也是植物杂种优势利用的重要基础, 其分子机理是目前研究的重点。多种研究证据表明, 线粒体基因与细胞质雄性不育密切相关。随着分子生物学和分子遗传学的不断发展, 许多植物的恢复基因已经被定位和克隆, 进一步阐明了植物细胞质雄性不育和育性恢复的分子机理。本文综述了近几年植物中细胞质雄性不育和育性恢复相关基因的研究进展, 并探讨了细胞质雄性不育/育性恢复系统在育种方面的应用。

关键词: 细胞质雄性不育; 育性恢复基因; 分子机理; PPR 蛋白; 杂种优势

中图分类号: Q945.4

文献标识码: A

文章编号: 2095-0837(2017)06-0925-07

Recent advances in plant cytoplasmic male sterility and fertility restoration

Hao Yuan-Yuan¹, Shu Huang-Ying¹, Cai Qing-Ze¹, Wang Zhen¹, Hu Jia-Qi¹,
Zhu Guo-Peng¹, Cheng Shan-Han¹, Zhou Yuan², Wang Zhi-Wei^{1*}

(1. Hainan Key Laboratory for Sustainable Utilization of Tropical Bioresources, Institute of Tropical Agriculture and Forestry, Hainan University, Haikou 570228, China; 2. Wuhan Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430074, China)

Abstract: Cytoplasmic male sterility (CMS) is a maternal genetic trait widely found in higher plants. CMS is not only a favorable material for studying the interaction between mitochondrial and nuclear genes, but also an important basis for the utilization of plant heterosis, with its molecular mechanism the focus of current research. Evidence suggests that mitochondrial genes are closely related to CMS. With the continuous development of molecular biology and genetics, many plant fertility restoration (Rf) genes have been mapped and cloned, further elucidating the molecular mechanisms of plant CMS and Rf. This review summarizes the recent research advances in CMS and Rf-related genes in plants, and explores the application of the CMS/Rf system in breeding.

Key words: Cytoplasmic male sterility; Fertility restoration gene; Molecular mechanism; PPR protein; Heterosis

收稿日期: 2017-05-15, 退修日期: 2017-06-12。

基金项目: 国家自然科学基金项目(31470412); 海南大学高层次人才启动基金(KYQD1656)。

This work was supported by grants from the National Natural Science Foundation of China (31470412) and the Startup Funding from Hainan University (KYQD1656).

作者简介: 郝园园(1992-), 女, 硕士研究生, 主要从事植物发育生物学研究(E-mail: 627968306@qq.com)。

* 通讯作者(Author for correspondence. E-mail: zwwang22@163.com; wangzhiwei@hainu.edu.cn)。

植物雄性不育是指植物在有性繁殖过程中雄性器官不能产生正常功能花粉的现象。造成雄性不育的因素多种多样，在分类上也有不同的标准。目前大多根据不育性的基因型组成对雄性不育进行分类。1947 年，Sears 对植物雄性不育的遗传关系作出较为完整的概述，并提出经典的“三型学说”，他根据植物雄性不育材料基因型的差异，将雄性不育分为 3 种类型：细胞核不育型、细胞质不育型以及核质互作不育型。1956 年，Edwardson 将细胞质不育及核质互作不育型归为一类，称胞质作用型，另一类称核作用类型，称为“二型学说”，并受到广泛认可。细胞核雄性不育(genic male sterility, GMS)是由细胞核不育基因控制，没有正反交遗传效应，这种类型非常普遍^[1]。细胞质雄性不育(cytoplasmic male sterility, CMS)广泛存在，表现为母性遗传^[2]，植物 CMS 与育性恢复(fertility restoration, Rf)调控网络受控于细胞质和细胞核两套遗传系统，是研究质核互作的模式系统^[3]。植物 CMS/Rf 系统是极重要的种质资源，目前，CMS/Rf 系统已成为农业领域杂交种培育的主要途径，从而使农作物的杂种优势在生产中得到充分发挥。因此，植物 CMS 及育性恢复的研究一直受到分子遗传学、细胞生物学、进化生物学及育种学等多个领域的广泛关注。

1 线粒体基因组与 CMS

大量的分子遗传学及细胞学研究表明，线粒体基因组是 CMS 系统的细胞质因子载体^[4]。与动物、真菌及一些低等植物的线粒体基因组相比，高等植物线粒体基因组较大，且结构复杂多变，容易引发同源重组和外源 DNA 的整合。高等植物线粒体基因组的这些特征使其在进化过程中会产生一些嵌合的线粒体基因^[5-7]，其中的部分嵌合基因决定着植物 CMS，而核育性恢复基因会影响这些嵌合基因的转录或翻译，最终使育性得以恢复。大部分 CMS 基因由已知线粒体功能基因的部分序列和来源未知的序列构成，通常与其它线粒体基因共转录^[8-11]。最近的研究发现了一种新的 CMS 基因的嵌合类型：水稻 WA-CMS 基因 WA352 与已知线粒体功能基因不存在相似性，而是由两个预测的线粒体 *orf* 的部分序列嵌合形成^[7]。这些 CMS 基因的表达产物多为毒蛋白，进而影响植物呼吸链上某

些酶的正常功能或引发细胞程序性死亡。

CMS 基因的表达调控呈现多样性：有的在转录水平发生编辑和加工^[12-14]。线粒体基因的启动子没有一致的特征，不同类型的启动子可以启动某个或某些基因的转录。线粒体 RNA 具有较长的 5' 和 3' 非编码区，5' 端没有帽子结构，大部分 3' 端没有 poly(A) 结构。植物线粒体基因可以在多个位置开始转录，也可以在多个位置终止转录，产生大小不同的转录本，而转录后的剪接进一步增加了转录本大小的变化^[15]。同时，植物线粒体基因转录后编辑(通常是 C 转化为 U)十分普遍，大部分编码蛋白质的线粒体基因会发生转录后编辑^[16,17]。另外，有些 CMS 基因调控发生在翻译水平。CMS 基因编码的蛋白质可以与核编码的线粒体蛋白质相互作用，抑制其在过氧化物代谢过程中正常功能的发挥，从而造成雄性不育^[7,9,18]。

2 细胞质雄性不育作用机理

日益深入的 CMS 作用机理研究逐步拓展到解析 CMS 基因介导的网络调控，在水稻(*Oryza sativa L.*)中已有相关的探索。最典型的例子是水稻线粒体基因 *DCW11* 和 *OsNek3*，这两个基因分别编码磷酸化酶和 NIMA 相关激酶。分析表明，表现为配子体不育的 CW-CMS 水稻中，*DCW11* 和 *OsNek3* 的表达量下降，*OsNek3* 突变型不影响 *DCW11* 的表达，但 *DCW11* 突变型能下调 *OsNek3* 的表达，表明 *OsNek3* 的作用在网络调控中处于 *DCW11* 下游^[19]。水稻 Honglian-CMS 的雄性不育蛋白 ORFH79 直接与线粒体电子传递链复合体Ⅲ亚基 P61 相互作用。与同型保持系相比，拥有 *orfH79* 的不育系 ATP 浓度降低，而活性氧浓度上升。由此推断 ORFH79 蛋白结合线粒体电子传递链复合体Ⅲ，使其酶活性降低，从而导致能量供给紊乱和产生氧化应激反应，最终致使花粉不育^[20]。同时，有研究表明水稻 Honglian-CMS 的雄性不育蛋白 ORFH79 不利于大肠杆菌的氧呼吸，从而抑制大肠杆菌的生长^[21]。最近，表现为孢子体不育的 WA-CMS 不育决定基因 WA352 被成功鉴定后，进一步利用酵母双杂交技术筛选出了 11 个 WA352 的候选互作蛋白。随后对其中一个核编码的线粒体定位跨膜蛋白 *OsCOX11* 进行解析发现：通过 RNAi 干涉掉 *OsCOX11* 后，水稻表现为

雄性不育, 同时, 酵母双杂交技术检测到 WA352 蛋白中的两个 OsCOX11 互作区, 转基因研究证实 WA352 通过 OsCOX11 的互作区抑制 OsCOX11 在过氧化物代谢过程中正常功能的发挥, 使绒毡层细胞提前进入程序性死亡, 最终导致雄性不育。转基因研究表明, 含有 OsCOX11 互作区的 WA352 能够使植株表现雄性不育。综上所述, OsCOX11 是水稻保持正常育性的关键因子, 而 WA352 通过直接控制 OsCOX11 来决定雄性不育^[7]。

此外, 多种植物 CMS 相关基因及作用机理已被初步阐明。玉米 (*Zea mays L.*) CMS 分为 3 种类型, 其中对 T 型 CMS 研究最为深入。研究表明, 玉米 T 型线粒体 DNA 中含有与 T 型不育相关的开放阅读框 *ORF13*, 可编码一个 T 型 CMS 玉米中特有的 13 kD 的多肽, 具有跨膜结构可引起线粒体内膜透性的改变, 影响线粒体的正常代谢, 从而造成雄性不育^[22]。pol-CMS 甘蓝型油菜的不育基因为 *orf224*, 研究表明, 将 *orf224* 部分序列及全长序列导入大肠杆菌中, 其中 *orf224* 特异性表达的大肠杆菌生长受到抑制, 由此推测 *orf224* 编码一个毒蛋白, 从而造成雄性不育^[23]。与 ogura-CMS 萝卜相关的不育基因为 *orf138*, 通过分离线粒体发现 *ORF138* 蛋白与线粒体内膜相关, 在大肠杆菌中该蛋白可以抑制细菌的生长, 但不抑制呼吸作用^[24]。

3 细胞质雄性不育育性恢复作用机理

随着恢复基因的克隆数目日益增多, CMS 育性恢复机制呈现出多样性。第一个被克隆的恢复基因是玉米 *Rf2*, 该基因属于醛脱氢酶基因家族, 编码产物为乙醛脱氢酶。*Rf2* 与典型的核恢复基因的不同之处在于它不会影响 CMS 相关基因产物的积累, *Rf2* 基因编辑 mtALDH 蛋白, 并在植物大多数器官中积累该蛋白, mtALDH 的活性是花粉正常发育必需的, 研究认为 *Rf2* 基因通过编码 mtALDH 蛋白从而恢复植物育性^[25]。近几年还发现了一类可以特异结合 RNA 并对其剪切、编辑、加工和翻译产生影响的质体或线粒体蛋白, 它们具有 PPR (pentatricopeptide repeat) 结构域^[26-31]。目前已在多种作物中鉴别出编码 PPR 结构域的恢复基因^[8,9,12,32-37]。同时, 研究发现这些恢复基因座包含多个高度相似的 PPR 基因^[12,32,33,36]。首先报道

含有 PPR 基序的恢复基因为矮牵牛 (*Petunia hybrida* (J. D. Hooker) Vilmorin) 的 *Rf-PPR592*, 编码含有 14 个 PPR 的 592 个氨基酸的蛋白, 可以降低 CMS 线粒体中的特异性蛋白质 PCF 的含量, 从而恢复育性^[32]。萝卜 (*Raphanus sativus L.*) 恢复基因 *Rfo* 含有 16 个 PPR 基序且该基因两侧含有相似性高达 72% ~ 86% 的同源基因^[38]。水稻中, Boro II 型 CMS 线粒体中存在 *cox I* 基因部分编码序列和一段未知来源序列镶嵌而成的 *orf79* 基因, 该基因的表达产物能够致死大肠杆菌, 同时水稻转基因验证表明该基因导致配子体不育, 从而证实 Boro II 型 CMS 基因为 *orf79*^[8,9]。最近通过线粒体的全基因组测序确证 *orf79* 是 Boro II 型 CMS 基因^[39]。深入研究发现, 与之紧密连锁的两个 PPR 基因 (*Rf1a* 和 *Rf1b*) 分别通过两种不同方式影响 CMS 基因 *orf79* 转录本来恢复 Boro II 型 CMS 的育性^[8,9]。这种复合基因座结构有助于植物应对不同类型不育细胞质进行适应性进化, 选择获得相应的恢复基因, 也可解释为什么大多数天然植物恢复基因是 PPR 家族成员。最近研究发现, *RF5* (*Rf1a*) 和 *RF6* 是水稻 Boro II 型 CMS 主要基因, 并且在热应激反应下, *RF6* 的稳定性相比 *RF5* 更好, 可见 *RF6* 在水稻 Boro II 型的育性恢复及育种应用方面有重要作用^[40]。通过定位克隆策略, 水稻 CW-CMS 恢复基因 *Rf17* 被成功鉴定, 命名为 *RMS* (RETROGRADE-REGULATED MALE STERILITY)。转基因验证表明 *RMS* 功能丧失的 CW-CMS 植株的花粉育性得到恢复, 而 *RMS* 的正常表达则导致 CW-CMS 植株花粉的死亡。*RMS* 蛋白不含 PPR 结构域, 含有 178 个氨基酸, 属于磷酸泛酰巯基乙胺基转移酶家族成员^[19]。此后, 又一具有不同分子特征的恢复基因被成功克隆, 即 Lead Rice-CMS 恢复基因 *Rf2*, 其编码产物为线粒体蛋白, 该蛋白含有 152 个氨基酸, 拥有一个富含甘氨酸的结构域^[41]。深入研究发现, *Rf2* 可抑制 Lead Rice-CMS 线粒体中 *ORF79* 蛋白的积累, 从而恢复花粉育性^[39]。研究还发现水稻 Honglian CMS 恢复基因 *RF5* 编码 PPR 蛋白, 但该蛋白不直接结合 CMS 基因 *orfH79* 的 RNA, 而是 *RF5* 蛋白与富含甘氨酸结构域的 *GRP162* 直接互作形成复合体, 通过该复合体结合并剪切 *orfH79*, 从而完成育性恢复的使命^[42], 这也表明 PPR 恢复基因和编码富

含甘氨酸结构域基因属于同一个育性恢复调控网络。

最新研究表明, 水稻 Honglian CMS 恢复基因 *RF6* 与己糖激酶 6 (*OsHXK6*) 相互作用, 减少 CMS 相关转录物 *atp6-orfH79* 的积累, 从而恢复其育性^[43]。同时, 研究发现水稻 RT98 型 CMS 中的 *R98* 位点含有 7 个 PPR 基因簇, 其中引入 *PPR762* 基因可恢复部分育性, 可见 *PPR762* 基因是育性恢复的必需基因, 而 *Rf98* 位点附近的其它基因与育性完全恢复相关^[44]。对于水稻 WA-CMS, 研究表明两个恢复基因对不育基因 *WA352* 分别在转录水平和翻译水平进行调控, 但它们的分子特征及育性恢复的精细机理有待于进一步阐明^[7]。有研究发现 *Rf4* 编码 PPR 蛋白, 并减少了 *WA352* 的转录产物, 从而恢复了花粉的生育力^[45]。深入研究发现, *PPR9-782-(M,I)* 是 *Rf4* 的候选基因^[46]。在转录组水平上, 借助基因芯片技术, 解析了水稻 5 种 CMS 系及相应保持系的转录组, 获得了一些共同表达特征的线粒体基因, 同时在不育系二核花粉期的花药中发现一个异常上调表达的线粒体胁迫标记基因 *ALTERNATIVE OXIDASE 1A*^[47]。菜豆 (*Phaseolus vulgaris L.*) 的 CMS 与 *pvs* 基因相关, 其恢复基因 *Fr* 作用在线粒体 DNA 水平, *Fr* 基因可导致线粒体内编码 DNA 的量减少, 从而降低不育相关基因 *pvs* 的表达, 恢复育性^[48]。另外, 近年发现的光敏或光温敏不育育性恢复涉及 non-coding RNA 的创新结果对 CMS 及育性恢复的深入解析具有重要借鉴作用^[49-52]。光敏不育相关基因 *pms3* 转录成 long non-coding RNA(IncRNA), 即长日特异性雄性不育相关 RNA(LDMAR), 由于一个 SNP 的变异导致 LDMAR 的 RNA 二级结构发生改变, 造成其启动子区域 DNA 甲基化程度升高, 抑制了基因在长日照调节下的表达量, 导致花药过早进入程序性死亡, 从而导致雄性不育^[49]。非编码 RNA 是某些环境条件下雄性不育的重要调节因子^[50]。

在模式植物拟南芥 (*Arabidopsis thaliana L.*) 中, 尚未建立成熟的 CMS/Rf 系统, 仅见一篇文献报道关于拟南芥 CMS 的初步研究, 没有育性恢复基因克隆的报道, 而同为十字花科的萝卜 (*Raphanus sativus L.*) 中, 早已发现了大量天然的 CMS, 且大多不受外界条件干扰, 败育彻底、不

育性稳定, 同时随着萝卜成熟转基因技术的建立, 使萝卜 CMS/Rf 系统已成为研究植物 CMS 及育性恢复多样性分子机理的一个重要系统^[12,33-35]。

4 总结与展望

植物细胞质雄性不育是一种广泛存在于高等植物中的生物学现象, 植物细胞质雄性不育及其育性恢复的分子机理涉及核质互作、基因表达调控、环境调控以及细胞器遗传转化等多个方面, 同时细胞质雄性不育是杂交优势育种的重要基础, 因此受到了科研人员的广泛关注, 前人已经在细胞学、植物生理学以及分子生物学等多个方面对其进行了大量研究, 其分子机理是目前的研究重点。

目前研究表明, 线粒体基因的突变及其表达产物与细胞质雄性不育密切相关, 线粒体基因组是 CMS 系统的细胞质因子载体。随着分子生物学和生物信息学的不断发展, 目前已精细定位了大量 CMS 基因和恢复基因, 并对部分恢复基因进行了克隆和鉴定, 研究结果表明大量恢复基因中含有 PPR 基序, 与此同时, 已克隆并鉴定出不含 PPR 基序, 具有不同分子特征的恢复基因, 可见 CMS 育性恢复机制的多样性。

随着转基因以及细胞融合技术的不断发展, 可以通过转基因技术创造新的 CMS/Rf 系统, 同时可以利用种属间杂交和细胞融合技术将稳定的 CMS 种质导入到其它植物中。例如, 部分萝卜 CMS 种质通过属间杂交或细胞融合技术被导入到十字花科其它作物中, 有些在生产中已发挥重要作用。同时, 育种家一直期待萝卜 CMS/Rf 系统能在战略油料作物和潜在的优势能源作物—油菜 (*Brassica napus L.*) 的杂种优势育种中得到方便快捷的应用^[34]。萝卜新 CMS/Rf 系统的分子解析创新成果有望应用于油菜生产, 即可根据创新结果将设计的表达载体(基因正义或 RNAi 载体)通过转基因途径高效地导入到油菜中, 同时利用近年发展起来的高效、简单和安全的基因组定点突变技术 CRISPR/Cas 系统定点编辑育性位点^[53,54], 从而快速实现三系配套。新成果的应用可增加油菜杂交育种系统的多样性, 降低单一不育胞质应用风险, 保持彻底的不育特征可以保证杂种纯度。

CMS 基因和恢复基因的克隆为 CMS 和育性恢复的复杂调控网络的分子解析提供了重要切入点。

可以预见, 多样性的天然 CMS 系统的新 CMS 基因和恢复基因以及基于这些重要节点基因的信号转导网络将被逐步揭开其神秘面纱。然而由于 CMS 涉及多方面以及不育机理及恢复机理的多样性, 其分子机理还未得到全面揭示。未来可结合高通量测序技术, 解析不育基因及恢复基因的分子特征, 以期深化对植物细胞质雄性不育分子调控机理的理解, 加深对植物保持遗传多样性遗传机制的认识, 从而全面揭示 CMS 这一遗传现象的本质, 为植物杂种优势育种提供条件, 也使 CMS/Rf 系统的育种应用变得更加高效。

参考文献:

- [1] 汪志伟. 萝卜细胞质雄性不育胞质和核基因的分子标记的开发及其分子特征[D]. 武汉: 华中农业大学, 2006.
- [2] 马艳青, 邹学校. 蔬菜雄性不育研究与应用进展[J]. 作物研究, 2004(S1): 414–420.
- [3] Chen L, Liu YG. Male sterility and fertility restoration in crops[J]. *Annu Rev Plant Biol*, 2014, 65(1): 579–606.
- [4] Hu J, Huang WC, Huang Q, Qin XJ, Yu CC, Wang LL, Li SQ, Zhu RS, Zhu YG. Mitochondria and cytoplasmic male sterility in plants[J]. *Mitochondrion*, 2014, 19: 282–288.
- [5] Chase CD. Cytoplasmic male sterility: a window to the world of plant mitochondrial — nuclear interactions [J]. *Trends Genet*, 2007, 23(2): 81–90.
- [6] Maréchal A, Brisson N. Recombination and the maintenance of plant organelle genome stability[J]. *New Phytol*, 2010, 186(2): 299–317.
- [7] Luo D, Xu H, Liu Z, Guo J, Li H, Chen L, Fang C, Zhang Q, Bai M, Yao N. A detrimental mitochondrial-nuclear interaction causes cytoplasmic male sterility in rice [J]. *Nat Genet*, 2013, 45(5): 573–577.
- [8] Wang Z, Zou Y, Li X, Zhang Q, Chen L, Wu H, Su D, Chen Y, Guo J, Luo D. Cytoplasmic male sterility of rice with Boro II cytoplasm is caused by a cytotoxic peptide and is restored by two related PPR motif genes via distinct modes of mRNA silencing[J]. *Plant Cell*, 2006, 18(3): 676–687.
- [9] Kazama T, Nakamura T, Watanabe M, Sugita M, Toriyama K. Suppression mechanism of mitochondrial ORF79 accumulation by Rf1 protein in BT-type cytoplasmic male sterile rice[J]. *Plant J*, 2008, 55(4): 619–628.
- [10] Yamamoto MP, Shinada H, Onodera Y, Komaki C, Mikami T, Kubo T. A male sterility-associated mitochondrial protein in wild beets causes pollen disruption in transgenic plants[J]. *Plant J*, 2008, 54(6): 1027–1036.
- [11] Nizampatnam NR, Doodhi H, Narasimhan YK, Mulpuri S, Viswanathaswamy DK. Expression of sunflower cytoplasmic male sterility-associated open reading frame, *orfH522* induces male sterility in transgenic tobacco plants [J]. *Planta*, 2009, 229(4): 987–1001.
- [12] Uyttewaal M, Arnal N, Quadrado M, Martin-Canadell A, Vrielynck N, Hiard S, Gherbi H, Bendahmane A, Budar F, Mireau H. Characterization of *Raphanus sativus* pentapeptide repeat proteins encoded by the fertility restorer locus for Ogura cytoplasmic male sterility[J]. *Plant Cell*, 2008, 20(12): 3331–3345.
- [13] Das S, Sen S, Chakraborty A, Chakraborti P, Maiti MK, Basu A, Basu D, Sen SK. An unedited 1.1 kb mitochondrial *orfB* gene transcript in the wild abortive cytoplasmic male sterility (WA-CMS) system of *Oryza sativa* L. subsp. *indica*[J]. *BMC Plant Biol*, 2010, 10(1): 39.
- [14] Kumar P, Vasupalli N, Srinivasan R, Bhat SR. An evolutionarily conserved mitochondrial *orf108* is associated with cytoplasmic male sterility in different alloplasmic lines of *Brassica juncea* and induces male sterility in transgenic *Arabidopsis thaliana*[J]. *J Exp Bot*, 2012, 63(8): 2921–2932.
- [15] Hammani K, Giege P. RNA metabolism in plant mitochondria[J]. *Trends Plant Sci*, 2014, 19(6): 380–389.
- [16] Takenaka M, Zehrmann A, Verbitskiy D, Härtel B, Brennicke A. RNA editing in plants and its evolution[J]. *Annu Rev Genet*, 2013, 47: 335–352.
- [17] Ichinose M, Sugita M. RNA editing and its molecular mechanism in plant organelles[J]. *Genes*, 2016, 8(1): 5.
- [18] Gillman JD, Bentolila S, Hanson MR. The petunia restorer of fertility protein is part of a large mitochondrial complex that interacts with transcripts of the CMS-associated locus [J]. *Plant J*, 2007, 49(2): 217–227.
- [19] Fujii S, Toriyama K, Nasrallah JB. Suppressed expression of “RETROGRADE-REGULATED MALE STERILITY” restores pollen fertility in cytoplasmic male sterile rice plants [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106(23): 9513–9518.
- [20] Wang K, Gao F, Ji Y, Liu Y, Dan Z, Yang P, Zhu Y, Li S. ORF79 impairs mitochondrial function via interaction with a subunit of electron transport chain complex III in Honglian cytoplasmic male sterile rice [J]. *New Phytol*, 2013, 198(2): 408–418.
- [21] Ding X, Chen Q, Bao C, Ai A, Zhou Y, Li S, Xie H, Zhu Y, Cai Y, Peng X. Expression of a mitochondrial gene *orfH79* from CMS-Honglian rice inhibits *Escherichia coli* growth via deficient oxygen consumption [J]. *Springerplus*, 2016, 5(1): 1125.
- [22] Dewey RE, Levings CS, Timothy DH. Novel recombinations in the maize mitochondrial genome produce a unique

- transcriptional unit in the Texas male-sterile cytoplasm[J]. *Cell*, 1986, 44(3): 439–449.
- [23] 赵荣敏, 王迎春, 范云六. 油菜波里马胞质雄性不育相关线粒体基因 *orf224* 在大肠杆菌中的克隆和表达[J]. 农业生物技术学报, 1996(1): 15–22.
- Zhao RM, Wang YC, Fan YL. The cloning and expression of *orf224* gene associated with Polima cytoplasmic male sterility of *Brassica napus* in *E. coli* [J]. *Journal of Agricultural Biotechnology*, 1996(1): 15–22.
- [24] Duroc Y, Gaillard C, Hiard S, Defrance MC, Pelletier G, Budar F. Biochemical and functional characterization of ORF138, a mitochondrial protein responsible for Ogura cytoplasmic male sterility in Brassiceae [J]. *Biochimie*, 2005, 87(12): 1089–1100.
- [25] Liu F, Cui X, Horner HT, Weiner H, Schnable PS. Mitochondrial aldehyde dehydrogenase activity is required for male fertility in maize[J]. *Plant Cell*, 2001, 13(5): 1063–1078.
- [26] Manavski N, Guyon V, Meurer J, Wienand U, Brettschneider R. An essential pentatricopeptide repeat protein facilitates 5' maturation and translation initiation of *rps3* mRNA in maize mitochondria [J]. *Plant Cell*, 2012, 24(7): 3087–3105.
- [27] Fujii S, Sato N, Shikanai T. Mutagenesis of individual pentatricopeptide repeat motifs affects RNA binding activity and reveals functional partitioning of *Arabidopsis* PROTON GRADIENT REGULATION3[J]. *Plant Cell*, 2013, 25(8): 3079–3088.
- [28] Ke J, Chen RZ, Ban T, Zhou XE, Gu X, Tan ME, Chen C, Kang Y, Brunzelle JS, Zhu JK. Structural basis for RNA recognition by a dimeric PPR-protein complex [J]. *Nat Struct Mol Biol*, 2013, 20(12): 1377–1382.
- [29] Liu YJ, Xiu ZH, Meeley R, Tan BC. Empty *pericarp5* encodes a pentatricopeptide repeat protein that is required for mitochondrial RNA editing and seed development in maize[J]. *Plant Cell*, 2013, 25(3): 868–883.
- [30] Yin P, Li Q, Yan C, Liu Y, Liu J, Yu F, Wang Z, Long J, He J, Wang HW. Structural basis for the modular recognition of single-stranded RNA by PPR proteins[J]. *Nature*, 2013, 504(7478): 168–171.
- [31] Barkan A, Small I. Pentatricopeptide repeat proteins in plants[J]. *Annu Rev Plant Biol*, 2014, 65(1): 451–442.
- [32] Bentolila S, Alfonso AA, Hanson MR. A pentatricopeptide repeat-containing gene restores fertility to cytoplasmic male-sterile plants[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99(16): 10887–10892.
- [33] Brown GG, Formanová N, Jin H, Wargachuk R, Dendy C, Patil P, Laforest M, Zhang J, Cheung WY, Landry BS. The radish *Rfo* restorer gene of Ogura cytoplasmic male sterility encodes a protein with multiple pentatricopeptide repeats[J]. *Plant J*, 2003, 35(2): 262–272.
- [34] Desloire S, Gherbi H, Laloui W, Marhadour S, Clouet V, Cattolico L, Falentin C, Giancola S, Renard M, Budar F. Identification of the fertility restoration locus, *Rfo*, in radish, as a member of the pentatricopeptide-repeat protein family[J]. *EMBO Reports*, 2003, 4(6): 588–594.
- [35] Koizuka N, Imai R, Fujimoto H, Hayakawa T, Kimura Y, Kohno-Murase J, Sakai T, Kawasaki S, Immura J. Genetic characterization of a pentatricopeptide repeat protein gene, *orf687*, that restores fertility in the cytoplasmic male-sterile Kosena radish [J]. *Plant J*, 2003, 34(4): 407–415.
- [36] Komori T, Ohta S, Murai N, Takakura Y, Kuraya Y, Suzuki S, Hiei Y, Imaseki H, Nitta N. Map-based cloning of a fertility restorer gene, *Rf-1*, in rice (*Oryza sativa* L.) [J]. *Plant J*, 2004, 37(3): 315–325.
- [37] Klein R, Klein P, Mullet J, Minx P, Rooney W, Schertz K. Fertility restorer locus *Rf1* of sorghum (*Sorghum bicolor* L.) encodes a pentatricopeptide repeat protein not present in the colinear region of rice chromosome 12[J]. *Theor Appl Genet*, 2005, 111(6): 994–1012.
- [38] Brown GG, Formanová N, Jin H, Wargachuk R, Dendy C, Patil P, Laforest M, Zhang J, Cheung WY, Landry BS. The radish *Rfo* restorer gene of Ogura cytoplasmic male sterility encodes a protein with multiple pentatricopeptide repeats[J]. *Plant J*, 2003, 35(2): 262–272.
- [39] Kazama T, Toriyama K. Whole mitochondrial genome sequencing and re-examination of a cytoplasmic male sterility-associated gene in Boro-Taichung-type cytoplasmic male sterile rice[J]. *PLoS One*, 2016, 11(7): e0159379.
- [40] Zhang H, Che J, Ge Y, Pei Y, Zhang L, Liu Q, Gu M, Tang S. Ability of *Rf5* and *Rf6* to restore fertility of chinsurah Boro II-type cytoplasmic male sterile *Oryza sativa* (ssp. *japonica*) lines[J]. *Rice*, 2017, 10(1): 2.
- [41] Itabashi E, Iwata N, Fujii S, Kazama T, Toriyama K. The fertility restorer gene, *Rf2*, for Lead Rice-type cytoplasmic male sterility of rice encodes a mitochondrial glycine-rich protein[J]. *Plant J*, 2011, 65(3): 359–367.
- [42] Hu J, Wang K, Huang W, Liu G, Gao Y, Wang J, Huang Q, Ji Y, Qin X, Wan L. The rice pentatricopeptide repeat protein RF5 restores fertility in Hong-Lian cytoplasmic male-sterile lines via a complex with the glycine-rich protein GRP162[J]. *Plant Cell*, 2012, 24(1): 109–122.
- [43] Huang W, Yu C, Hu J, Wang L, Dan Z, Zhou W, He C, Zeng Y, Yao G, Qi J, Zhang Z, Zhu R, Chen X, Zhu Y. Pentatricopeptide-repeat family protein RF6 functions with hexokinase 6 to rescue rice cytoplasmic male sterility[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2015, 112(48): 14984–14989.
- [44] Igarashi K, Kazama T, Toriyama K. A gene encoding pentatricopeptide repeat protein partially restores fertility in

- RT98-type cytoplasmic male sterile rice [J]. *Plant Cell Physiol.*, 2016, 57(10): 2187–2193.
- [45] Kazama T, Toriyama K. A fertility restorer gene, *Rf4*, widely used for hybrid rice breeding encodes a pentatricopeptide repeat protein[J]. *Rice*, 2014, 7: 28.
- [46] Pranathi K, Viraktamath BC, Neeraja CN, Balachandran SM, Prasad ASH, Rao PK, et al. Development and validation of candidate gene-specific markers for the major fertility restorer genes, *Rf4* and *Rf3* in rice[J]. *Mol Breeding*, 2016, 36(10): 145.
- [47] Fujii S, Yamada M, Fujita M, Itabashi E, Hamada K, Yano K, Kurata N, Toriyama K. Cytoplasmic-nuclear genomic barriers in rice pollen development revealed by comparison of global gene expression profiles among five independent cytoplasmic male sterile lines[J]. *Plant Cell Physiol.*, 2010, 51(4): 610–620.
- [48] Janska H, Sarria R, Woloszynska M, Arrieta-Montiel M, Mackenzie SA. Stoichiometric shifts in the common bean mitochondrial genome leading to male sterility and spontaneous reversion to fertility[J]. *Plant Cell*, 1998, 10(7): 1163.
- [49] Ding J, Lu Q, Ouyang Y, Mao H, Zhang P, Yao J, Xu C, Li X, Xiao J, Zhang Q. A long noncoding RNA regulates photoperiod-sensitive male sterility, an essential component of hybrid rice[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, 109(7): 2654–2659.
- [50] Zhou H, Liu Q, Li J, Jiang D, Zhou L, Wu P, Lu S, Li F, Zhu L, Liu Z. Photoperiod-and thermo-sensitive genic male sterility in rice are caused by a point mutation in a novel noncoding RNA that produces a small RNA[J]. *Cell Res.*, 2012, 22(4): 649–660.
- [51] Hu JH, Chen XJ, Zhang HY, Ding Y. Genome-wide analysis of DNA methylation in photoperiod- and thermo-sensitive male sterile rice Peiay 64S[J]. *BMC Genomics*, 2015, 16: 1–14.
- [52] Fan Y, Yang J, Mathioni SM, Yu J, Shen J, Yang X, et al. *PMS1T*, producing phased small-interfering RNAs, regulates photoperiod-sensitive male sterility in rice[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2016, 113(52): 15144–15149.
- [53] Puchta H. Applying CRISPR/Cas for genome engineering in plants: the best is yet to come[J]. *Curr Opin Plant Biol.*, 2016, 36: 1–8.
- [54] Liu H, Ding Y, Zhou Y, Jin W, Xie K, Chen LL. CRISPR-P 2.0: an improved CRISPR-Cas9 tool for genome editing in plants[J]. *Mol Plant*, 2017, 10(3): 530–532.

(责任编辑: 张平)